

A szerves savuriák diagnózisa gázkromatográf-tömegspektrométerrel (GC-MS)

Dr. Wittmann Gyula

SZTE, ÁOK, Gyermekgyógyászati Klinika és Gyermekegészségügyi
Központ, Szeged

Organikus aciduriák

Az anyagcsere-betegségek szerteágazó csoportja (>30), melyek közös jellemzője, hogy a szervezetbe nagy mennyiségben amino csoportot nem tartalmazó szerves sav halmozódik fel és választódik ki a vizeletbe (acid-aemia/aciduria). A legtöbb szerves acidaemia valamely enzim működés kiesésére vezethető vissza és a kórképet az érintett enzimreakció szubsztrátumának toxikus mennyiségben történő felhalmozódása, vagy a reakció termékének hiánya idézi elő. Előfordulási gyakoriságuk ~1:50.000.

Az organikus aciduriák felosztása

Klasszikus organikus aciduriák

Elsődlegesen az elágazó láncú aminosavak (valin, leucin, izoleucin) intermediér anyagcseréjének zavarai, amelyekre szisztémás klinikai tünetek és biokémiai eltérések jellemzőek (metabolikus acidózis, laktát acidózis, ketózis, hipoglikémia, esetleg hiperammonémia).

Cerebrális (neurometabolikus) organikus aciduriák

A neurometabolikus organikus aciduriákat progrediáló központi idegrendszeri tünetek jellemzik, így: extrapiramidális tünetek (bazális ganglionok érintettsége), progresszív ataxia (cerebellum), myoclonusos görcsök, pszichomotoros retardáció, acut encephalopathia. Az MRI felvételen.

Ugyanakkor a klasszikus organikus aciduriákra jellemző biokémiai eltérések hiányoznak vagy enyhék. Jellemző a kórosan emelkedett szerves

savürítés, amelynek kimutatása biztosítja az elsődleges diagnózist (vizelet organikus sav analízis).

Zsírsavlebontás zavarai által előidézett organikus aciduriák

A zsírsavak mitokondriumban és peroxisómákon végbemenő oxidációját katalizáló enzimek hiánya által előidézett organikus aciduriák tartoznak ebbe a csoportba.

Mintavétel

A vizelet organikus savprofil GC/MS módszerrel történő meghatározásához optimális minta térfogat 2–5 ml (minimum 1 ml). Előnyös a reggeli vizelet és diagnosztikai szempontból legkedvezőbb a metabolikus dekompenzáció során nyert mintából végzett vizsgálat.

Mintavételt követően a vizeletet fagyasztott állapotba tároljuk, ha erre nincs lehetőség, tartósítás céljából adjunk kb. 2 csepp kloroformot 5 ml mintához.

A vizsgálat elvégzése megrendelhető a Szegedi Tudományegyetem Gyermekgyógyászati Klinikájának Anyagcsere Laboratóriumától, ehhez kérelmre letölthető a www.szote.u-szeged.hu/pedia/szuresszelektiv.pdf internet címről.

Célszerű egyidejűleg szűrőpapíron beszárított vérmintából (DBS) a tandem tömegspektrometriás aminosav-acilkarnitin profil meghatározás elvégzését is kérni. A vizelet GC/MS és a DBS tandem MS vizsgálatok eredménye jól kiegészíti egymást és ismeretükben nagyobb számú anyagcsere betegség kimutatására nyílik lehetőség. A kérelem kitöltésével nyújtott információk segítenek a vizsgálatok célirányos elvégzésében.

A táblázat első oszlopában a vizelet organikus sav meghatározás segítségével kimutatható fontosabb acidaemiákat, a második oszlopban az érintett enzimet, a harmadik oszlopban pedig a kóros mintában jellegzetes koncentrációemelkedést mutató metabolitokat soroltuk fel a kóros, és zárójelbe a normál mintában mérhető koncentrációkat is feltüntettük.

A táblázatban feltüntetett adatok az [1, 2] irodalmi hivatkozásokból lettek átvéve és normál koncentráció értékek az 1–6 éves korú gyermekekre vonatkoznak.

Organikus aciduria	Az érintett enzim	GC-MS vizelet organikus savprofil emelkedett metabolit	Kórosan emelkedett koncentráció (mmól/mól kreatinin)
Aminosav lebontásban szerepet játszó enzim hiány okozta organikus aciduriák			
Jávorfaszörp szirup betegség	Elágazó láncú α -ketosav dehidrogenáz (leucin, izo-leucin és valin lebontás)	2-oxo-izo-kapronsav	400-4400 (<2)
		2-oxo-3-metil-valeriánsav	500-2500 (<2)
		2-oxo-izo-valeriánsav	300-800 (<2)
		2-hidroxi- izo-valeriánsav	850-3600 (<2)
		2-hidroxi-3-metil-valeriánsav	60-400 (<2)
Izovaleriánsav acidúria	Izo-valeril-CoA dehidrogenáz (leucin lebontás)	Izo-valeril-glicin	2000-9000 (0-10)
		3-hidroxi-izo-valeriánsav	1000-2000 (0-46)
		4-hidroxi-izo-valeriánsav	20-300 (<2)
3-Metil-krotonil-glicinuria	3-metil-krotonil-CoA karboxiláz (leucin lebontás)	3-metil-krotonil-glicin,	400-1000 (<2)
		3-hidroxi-izo-valeriánsav	1700-59000 (0-46)
3-Metil-glutakonsav aciduria	3-metil-glutakonil-CoA hidratáz (I. típus, Barth szindróma, Costeff szindróma) (leucin lebontás, de 3-metil-glutakonsav emelkedés jelezhet ATP szintetáz hiányt és légzési lánc defektust)	3-metil-glutakonsav	150-1000 (0-46)
		3-metil-glutársav	5-85 (0-9)
3-hidroxi-3-metil-glutársav aciduria	3-hidroxi-3-metil-glutaril-CoA liáz (leucin lebontás)	3-hidroxi-3-metil-glutársav	200-11000 (11-36)
		3-metil-glutakonsav	140-10000 (0-46)
		3-metil-glutársav	14-1000 (0-7)
		3-hidroxi-izo-valeriánsav	60-4000 (0-46)
Biotinidáz hiány (többszörös karboxiláz)	Propionil-CoA-karboxiláz, 3-metil-krotonil-CoA-	3-hidroxi-izo-valeriánsav	250-1000 (0-46)
		3-metil-krotonil-glicin	30-260 (<2)

hiány)	karboxiláz, piruvát karboxiláz (biotin kofaktor hiány)	Metilcitrát	15-200 (0-12)
		3-hidroxi-propionsav	45-1300 (3-10)
		Laktát	100-75000 (0-25)
Propionsav aciduria	Propionil-CoA-karboxiláz (izo-leucin, metionin, treonin és valin lebontás)	Metil-citrát	150-2800 (0,5-5)
		3-hidroxi-propionsav	20-2000 (1-36)
		Propionil-glicin	0-450 (<2)
		3-hidroxi-valeriánsav	0-1200 (<2)
Metil-malonsav aciduria	Metil-malonil-CoA mutáz	Metil-malonát	150-15500 (<2)
		Metil-citrát	50-100 (0,5-5)
β -ketotioláz hiány	3-oxotioláz vagy 2-metil-acetoacetyl-CoA tioláz (leucin, izo-leucin, valin lebontás, ketogenezis)	3-hidroxi-butirát	100-50000 (0-3)
		Acetecetsav	50-20000 (<2)
		3-hidroxi-2-metil-butirát	10-200 (0-11)
		Tigilil-glicin	0-1000 (<2)
		2-metil-acetecetsav	50-100 (0-5)
Zsírsv lebontásban szerepet játszó enzim hiány okozta organikus aciduriák (a zsírsv oxidációs zavarokra jellemző, hogy a vizelet organikus sv profil epizodikus: amikor a beteg jól van a mintázat normál képet mutat. Fontos, hogy a mintavétel metabolikus dekompenzáció során történjen.			
Etil-malonsav aciduria	Rövid láncú (C4-C6) acil-CoA dehidrogenáz (SCAD)	Etil-malonsav	180-1150 (5-15)
		Metil-succinát	20-60 (0-3)
Közép láncú acil-CoA dehidrogenáz hiány	Közép láncú acil-CoA dehidrogenáz (MCAD)	Adipinsav	5-5200 (0-34)
		Suberát	6-5000 (0-10)
		Sebacát	0-5000 (<2)
		Hexanoil-glicin	2-730 (<2)
		Suberil-glicin	6-2200 (<2)
Hosszú láncú 3-hidroxiacil-CoA dehidrogenáz (LCHAD) hiány	Hosszú láncú 3-hidroxiacil-CoA dehidrogenáz	Suberát	0-20 (0-10)
		Sebacát	0-20 (<2)
		3-OH-dodekándikarbonsav	Kimutatható
		3-OH-tetradekándikarbonsav	Kimutatható
Glutársav aciduria II. típus Etil-malonsav – adipinsav aciduria	Elektron transzport flavoprotein (ETF) és/vagy ETF dehidrogenáz	Glutársav	0-22000 (0-5)
		Etil-malonsav	10-1400 (5-15)
		Adipinsav	0-1600 (0-34)

Cerebrális (neurometabolikus) organikus aciduriák			
2-hidroxi-glutársav aciduria	D-, illetve L-2-hidroxi-glutársav dehidrogenáz	2-hidroxi-glutársav	200-1600 (1-19)
4-hidroxi-butirát aciduria	Succinic semialdehyd dehidrogenáz	4-hidroxi-butirát	130-7600 (<2)
		3,4-dihidroxi-butirát	5-225 (30-166)
Canavan betegség	N-acetil-aszpartát amidohidroláz	N-acetil-aszpartát	1000-7000 (<2)
Glutársav aciduria I. típus	Glutaril-CoA dehidrogenáz	Glutársav	500-12000 (0-5)
		3-hidroxi-glutársav	60-3000 (0-3)
Fumársav aciduria	Fumaráz	Fumársav	3000-4000 (1-10)
Vanillaktát aciduria	Aromás L-aminosav dekarboxiláz	Vanillaktát	300-500 (5-10)
Egyéb organikus aciduriák			
Alkaptonuria	Homogentizinsav oxidáz	Homogentizinsav	300-1000 (<2)
Hiperoxaluria I. típus	Alanine glioxilát aminotransferáz	Oxalát	90-350 (0-54)
		Glikolsav	>100 (11-103)
Mevalonsav aciduria	Mevalonát kináz (peroxisomális koleszterol bioszintézis)	Mevalonsav lakton	1000-56000 (<2)

Fontos megemlíteni, hogy egyes metabolitok koncentráció emelkedését az anyagcsere betegségeken kívül, egyéb tényezők is előidézhetik [3], így gyógyszerek (valproát, pivalát, etomoxir, stb.), középláncú trigliceridben gazdag tápszer (MCT) fogyasztása, vitaminhiány (B₁₂, riboflavin), bélbaktériumok anyagcsere termékei, akut gasztroenteritisz, májelégtelenség és egyéb tényezők. A kromatogramok kiértékelésénél mindezen körülményeket a klinikai státusz ismeretében kell mérlegelni annak érdekében, hogy a téves diagnózisok (álpozitív, álnegatív) számát a minimumra csökkenthessük.

Irodalomjegyzék

[1] Sweetman L (1991) Organic acid analysis. Hommes FA., ed. *Techniques in Diagnostic Human Biochemical Genetics, A Laboratory Manual*. New York: Wiley-Liss, 143.

[2] Hoffmann GF, Feyh P (2003) Organic Acid Analysis. In N. Blau N, Duran M, Blaskovics ME, et al eds. *Physician's Guide to the Laboratory Diagnosis of Metabolic Diseases*, Springer Verlag: Berlin, Heidelberg, New York, p.29.

[3] Kumps A., Duez P. Mardens Y, Clinical Chemistry 48:5, 708–717 (2002) *Metabolic, Nutritional, Iatrogenic, and Artifactual Sources of Urinary Organic Acids: A Comprehensive Table.*